Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. W. Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Epithel der Gaumenfortsätze von Rattenembryonen (Tag 14-18)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Margrit Blunk
aus Berlin

1970

Aus dem II. Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. med. W. Schwarz

Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Epithel der Gaumenfortsätze von Rattenembryonen (Tag 14-18)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde

an der

Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Margrit Blunk

aus Berlin

Dekan: Professor Dr. H. L a x

Referent: Prof. Dr. med. Hans-Joachim Merker

Korreferent: Prof. Dr. med. Willy Schwarz

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 4. Februar 197o

Seite

I. Einleitung 1

II. Material und Methoden 6

III. Befunde 8

A. Tag 15 8

B. Tag 16 11

C. Tag 17 12

D. Vereinigung 14

IV. Diskussion 16

V. Zusammenfassung 2o

VI. Literaturverzeichnis

VII. Bildmaterial

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546510_0056

I. Einleitung

Aus der primären Mundhöhle entsteht während der Embryonalentwicklung durch eine horizontale Trennung die definitive Mund- und Nasenhöhle. Diese Trennung wird durch die Entwicklung faltenartiger Strukturen am Innenrand der primären Mundhöhle eingeleitet. Die Falten wachsen zunächst in Richtung Unterkiefer (= caudal), richten sich dann aber auf und verschmelzen in kurzer Zeit (z. B. CARSTEN, 1959; FUCHS, 1911; FULTON, 1957; HIS, 1901; HOCHSTETTER, 1936; INOUYE, 1912; JACOBS, 1964; LARSSON, 1962; LITTLE, 1963; PÖLZL, 1905; POHLMANN, 1910; SCHORR, 1908; SICHER, 1915; STEFFEK et al, 1968; TAYLOR, 1962; WALKER und FRAZER, 1956).

Viele Probleme der Fortsatzentwicklung und besonders des Gaumenschlusses sind trotz jahrzehntelanger Bearbeitung noch ungeklärt, zumindest aber heftig umstritten. Vereinfacht kann gesagt werden, daß folgende Ursachen des Gaumenschlusses diskutiert werden:

1. Ursachen, die von außen auf die Hebung der Falten einwirken, z. B.:
   - A. Aufrichtung des Kopfes während der Streckung
   - B. Muskuläre Aktivität im Bereich der Unterkiefer (Senkung des Unterkiefers)
   - C. Wachstums- und Bewegungsvorgänge der Zunge
2. Ursachen, die in den Falten selbst lokalisiert sind, z. B.:
   - A. Elastischer oder muskulärer Zug
   - B. Turgorschwankungen in der Falte
   - C. Richtungsprägung des Wachstums durch Proliferationsdruck

Die meisten neueren Autoren sind sich einig, daß den sogenannten äußeren Gründen höchstens eine unterstützende, keine auslösende Bedeutung beim Gaumenschluß zugeschrieben werden muß. Auch eine Beteiligung elastischer und muskulärer Elemente muß aufgrund elektronenmikroskopischer Arbeiten abgelehnt werden (NEUNER, 1969). Diskutiert wird deshalb hauptsächlich die Wichtigkeit der Turgorschwankungen und des Proliferationsdruckes, wobei sowohl Epithel als auch Mesenchym der mitotisch aktive Teil sein können.

Die Anhänger dieser beiden Anschauungen (Turgor - Proliferation) können jeder für sich gute morphologische Resultate vorweisen. Diese Diskrepanz wird möglicherweise durch die Untersuchungen von BURDI und FAIST (1967), COLEMAN (1965) sowie NEUNER (1969) erklärt. Diese Autoren fanden, daß die Gaumenfortsätze nicht als Einheit zu betrachten sind. Es gibt deutliche Unterschiede zwischen anterioren und posterioren Anteilen. Während in den hinteren Bezirken tatsächlich eine typische Falte aus lockerem mesenchymalem Gewebe nachweisbar ist, zeichnen sich die vorderen Abschnitte durch eine plumpere Gestalt und einen grösseren Zellreichtum aus. Möglicherweise bewegt sich also der hintere Abschnitt durch Turgorschwankungen im Interzellularraum und der vordere durch den Wachstumsdruck der heftig proliferierenden Zellen.

Damit hätten also beide Meinungsrichtungen Recht, und bei der Besprechung morphologischer Befunde vom Gaumenschluß wäre eine Definition der Schnittlokalisation notwendig. Die Kenntnis dieser Vorgänge ist natürlich wichtig zum Verständnis von Spaltbildungen und teratogenen Wirkungen.

Ungeklärt und erst wenig berücksichtigt ist bei diesenVorgängen die Rolle des Epithels. Beim Gaumenschluß können zwei Funktionen des Epithels vermutet werden:

Das Epithel könnte erstens eine Rolle bei der Differenzierung des darunter gelegenen Bindegewebes und vor allen Dingen bei der Prägung der Wachstumsrichtung spielen. Ähnliche Vorgänge kennen wir bei der Ausbildung des Handtellers mit der entsprechenden Ausdifferenzierung der Strahlen im Handbereich (AMPRINO und BONETTI, 1967; KIENY, 1966; PAUTOU, 1968; O'RAHILLY et al, 1956; ZWILLING, 1955, 1959). Auch in anderen Bezirken des Organismus kann bei Entwicklungsvorgängen ein deutlicher Einfluß des Bindegewebes auf das Epithel aber auch umgekehrt nachgewiesen oder zumindest vermutet werden (MERCER, 1961; MERKER, 1964; MOORE et al, 196o; MONTAGNA et al, 1952;). Hinweise auf eine enge funktionelle Zusammengehörigkeit des Epithels und des Bindegewebes bei der Ausdifferenzierung geben auch Gewebekulturen, die nur bei Vorhandensein beider Gewebearten zur Bildung organoider Strukturen führen (WESSELS, 1963; GROBSTEIN, 1953). Eine Bedeutung des Epithels in diesem Sinne für das Ingangkommen des Faltenwachstums und für die Prägung der Wachstumsrichtung müßte sich aber morphologisch erfassen lassen. So treten bei der Entwicklung des Handtellers typische Epithelverdickungen - sogenannte Epithelleisten, "apicale ridge" - auf, die mit einer deutlichen Zellvermehrung einhergehen. Ähnliche Vorgänge müßten auch am Epithel der Gaumenfalten nachweisbar sein.

Die zweite Aufgabe des Epithels bei der Aufrichtung der Gaumenfalten könnte in einem Proliferationsdruck durch hohe mitotische Aktivität in bestimmten Bezirken vermutet werden. Wenn am lateralen Rand der Gaumenfalten das Epithel sich

ausdehnt, müßte es zu einer Aufrichtung der Falten kommen (ORBAN, 1957). Auch diese Vorgänge würden sich morphologisch z. B. durch eine Verdickung des Epithels und einen Mitosereichtum an bestimmten Stellen manifestieren.

Schließlich spielt das Epithel noch im Endstadium des Gaumenschlusses eine Rolle. Soll der Gaumenschluß nach dem Aneinanderlegen der Gaumenfortsätze ungestört vollendet werden, müssen die zwischengeschalteten Epithelschichten verschwinden. Nur dann ist ein kontinuierliches bindegewebiges und schließlich knöchernes Verwachsen der Gaumenplatte möglich. Dieser Epithelverlust war natürlich schon in früheren Zeiten bekannt; erklärt doch ein mangelhaftes Verschwinden des Epithels das Auftreten von Cysten im mittleren Gaumenbereich (BOWMAN et al, 1967; BURDI, 1968; SCOTT, 1955). Der eigentliche Vorgang war jedoch unbekannt und allein lichtmikroskopisch schlecht zu erfassen. Ein besseres Verständnis ist durch die Erarbeitung des Lysosomenkonzeptes in letzter Zeit möglich geworden (DE DUVE, 1959; NOVIKOFF, 1961). Dieses Konzept besagt, daß alle Zellen in der Lage sind, hydrolytische Enzyme zu synthetisieren. Mit ihrer Hilfe gelingt es, phagocytiertes Material, Zellen und sogar Teile des zelleigenen Zytoplasmas einzuschmelzen und abzubauen. Tatsächlich konnte gezeigt werden, daß das lysosomale System beim Abbau der aneinander gelegten Epithelien der Gaumenfortsätze beteiligt ist. Die Epithelzellen gehen dabei zugrunde und werden schließlich durch mesenchymale Freßzellen abgeräumt (GIBBINS, 1962; MATO et al, 1968; HAYWARD, 1969).

Das Epithel der Gaumenfalten ist bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen erst wenig berücksichtigt worden (DE ANGELIS, 1969; GIBBINS, 1962; HAYWARD, 1969; MATO et al, 1968). Auch die Beteiligung des Epithels bei der Prägung der Wachstumsrichtung und der Aufrichtung der Falten ist noch nicht im Zusammenhang mit der Feinstruktur diskutiert. Wir untersuchten deshalb die Feinstruktur des Epithels während der Gaumenfaltenbildung und während des Gaumenschlusses, um dadurch zur Bedeutung des Epithels bei diesen Vorgängen Stellung nehmen zu können. Nicht zuletzt wurden die morphologischen Resultate dieser Untersuchungen und die genauen Zeitpunkte der einzelnen Entwicklungsstadien als Grundlage für Untersuchungen mit teratogen wirkenden Substanzen benötigt.

II. Material und Methoden

Für die vorliegenden Untersuchungen benutzten wir einen eigenen Inzuchtsstamm, der aus einem Wistar-Stamm herausgezüchtet wurde (Stam FW 68). Die Tiere befanden sich in temperatur- und feuchtigkeitsgeregelten Räumen mit einem umgekehrtenTag-Nacht-Rhythmus mittels künstlicher Beleuchtung. Die Begattung findet normalerweise zu einem großen Prozentsatz zwischen o.oo _ 2.oo Uhr statt. Durch die Umkehrung der Lichtverhältnisse kann ein Häufigkeitsmaximum des Bespringens zwischen 7.3o - 1o.oo Uhr erreicht werden. Dadurch gelingt eine genaue Zeitbestimmung. Um diese Zeitbestimmung und die Embryonen-Ausbeute noch zu erhöhen, führten wir Abstrichsuntersuchungen durch. Nur Tiere im Proöstrus wurden den Böcken in der Zeit zwischen 7.3o - 1o.oo Uhr zugesetzt. Durch weitere Ausstrichsuntersuchungen muß anschließend ein positiver Spermienbefund festgestellt werden. Auf diese Weise gelingt es, das Alter der Frucht relativ genau zu bestimmen. Gegen 8.oo Uhr sind bei dieser Versuchsanordnung 8o % aller Tiere bereits besprungen. Dieser Tag, beginnend von 8.oo Uhr bis zum nächsten Tag 8.oo Uhr ist Tag 1. Die einzelnen Zeiten innerhalb des 2. Tages können jetzt von 8.oo Uhr ab genau beschrieben werden. 12.oo Uhr am 2. Tag wäre genau Tag 1 + 4 Stunden.

Für unsere Untersuchungen benutzten wir Embryonen vom frühen und späten Tag 15 bis 18. Die Muttertiere wurden durch Nackenschlag getötet, die Foeten schnell entnommen und in toto in eine 2-%ige mit o,1 M Phosphatpuffer eingestellten (pH 7,4) Glutaraldehydlösung eingebracht. Nach einer Stunde präparierten wir in dieser Lösung unter der Lupe die einzelnen Teile der Embryos.

Zur Gewinnung der Kiefer legten wir einen Schnitt parallel zum Oberkiefer in Höhe der Augen und trennten damit große Teile der Hirnanlage ab. Ein dazu parallel verlaufender Schnitt trennte den Unterkiefer vom Hals. Das Kieferpräparat bestand jetzt aus einer flachen, ovalen Scheibe, die noch für weitere zwei Stunden in Glutaraldehydlösung nachfixiert wurde. Nach Auswaschen in Pufferlösung schloß sich die Nachfixation in 1-%iger OsO_4-Lösung (Phosphatpuffer pH 7,4) an. Nach Entwässerung in der Acetonreihe betteten wir die Kieferscheiben flach in Petrischalen in Mikropal ein.

Die Schnitte wurden nach Aussägen und Zuspitzen der Präparate mit LKB-Ultrotomen und Reichert-Mikrotomen geschnitten. Zur besseren Orientierung im Block stellten wir darüberhinaus noch Semidickschnitte an einem handgetriebenen Servall-Mikrotom her. Nach dem Aufziehen auf Objektträger erfolgte die Färbung in 1-%iger wässeriger Giemsa-Lösung mit Boraxzusatz. Diese 1 µ dicken Schnitte lassen sich im Lichtmikroskop gut beobachten.

Die Dünnstschnitte wurden mit Uranylacetat und Bleizitrat nachkontrastiert und in Siemens Elektronenmikroskopen I und I a bei einer Primärvergrösserung von 1,5 bis 30.000 fotografiert. Darüberhinaus standen Serienschnittreihen von Formalin-fixiertem und Paraffin-eingebettetem Material zur Verfügung. Folgende Färbung wurde hier durchgeführt: H.-E., Azan, Alcian-Blau, Metachromasie mit Toluidinblau, GÖMÖRI's saure Phosphatase.

III. Befunde

Neben den üblichen lichtmikroskopischen Kontrolluntersuchungen erwiesen sich die Semidickschnitte von Glutaraldehyd-OsO_4-fixiertem und Micropal-eingebettetem Material nach Färbung mit Giemsa-Lösung als sehr brauchbar. Die geringe Schnittdicke (1) und das Fehlen größerer Schrumpfungserscheinungen ergaben optisch mit dieser Methode schöne Bilder. Die Gaumenentwicklung beginnt Mitte bis Ende des 15. Tages (14 + 12 Stunden). Zu diesem Zeitpunkt sind die Gaumenfortsätze zuerst deutlich zu erfassen. Über die Einzelheiten der Verformung und Entwicklung der Gaumenfortsätze siehe Arbeit NEUNER (1969). Die wesentlichsten Stationen dabei sind die Aufrichtung dieser Fortsätze vom Zeitpunkt 16 + 12 Stunden an und die Verschmelzung zwischen dem Zeitpunkt 16 + 2o Stunden und 17 + 5 Stunden.

Am Epithel der Gaumenfalten ist im lichtmikroskopischen Bereich bis auf eine leichte Verdickung am lateralen Rand der Basis - die spätere Zahnleiste - kein auffälliger Befund zu erheben.

A. Tag 15

In den frühesten von uns untersuchten Stadien (Tag 15) bestehen weite Teile der primären Mundhöhlenauskleidung aus einem zweischichtigen Epithel. Dieses Epithel weist starke Ähnlichkeiten mit der embryonalen Epidermis zu dieser Zeit auf. Die oberflächliche Zellage ist flach ausgebreitet, und eine Zelle überspannt mehrere Basalzellen. Zum Lumen hin finden sich zahlreiche kleine, unregelmäßig verteilte, finger-

förmige Fortsätze, sogenannte Mikrovilli. An den Kontaktstellen benachbarter Zellen kommen sowohl Verzahnungen als auch zonulae occludentes (tight junctions)vor. Diese letzte Kontaktform zeichnet sich aus durch einen Verlust des Interzellularraumes und das Zusammenfliessen der äusseren Lamellen der Zellmembran. Aufgrund dieser morphologischen Kennzeichen kann die oberflächliche Schicht als embryonales Periderm - wie es typischerweise in der embryonalen Haut vorkommt - bezeichnet werden.

Die basalen Zellen haben eine kubische Form, sind selten einmal flacher oder zylindrisch. Zwischen den Zellen und zu dem Periderm hin liegen Interzellularräume, die durch Fortsätze unterschiedlicher Länge und Breite überbrückt werden. Die Fortsätze benachbarter Zellen berühren sich dabei und bilden häufig ausgeprägte Verzahnungen. Desmosomen (Haftstellen) kommen in diesen frühen Stadien noch nicht vor, jedoch finden sich vereinzelt zonulae occludentes. Zum Bindegewebe hin verschwinden die Interzellularräume. Die Membranen benachbarter Zellen laufen hier in einem Abstand von etwa 2oo Å parallel und relativ geradlinig.

Zytologisch lassen sich die Epithelzellen dieses frühen Stadiums etwa folgendermaßen charakterisieren: Bei einer großen Kern-Plasma-Relation zeigt der Kern vorwiegend glatte Konturen. Er enthält ein bis zwei große, aufgelockerte Nucleoli, die dunklen Abschnitte bestehen aus dicht gepackten, feinen Filamenten von 4o - 8o Å Dicke und etwa 15o - 2oo Å großen Granula, den sogenannten Nukleolusribosomen. Diese Strukturen kommen, wenn auch ungeordnet und sehr locker ver-

teilt, im übrigen Caryoplasma ebenfalls vor. Daneben finden sich natürlich alle Formen der Mitose. Die doppelte Kernmembran mit ihren Poren läßt sich, wenn sie nicht während der Mitose zerfällt bzw. wieder aufgebaut wird, deutlich darstellen.

Im Zytoplasma überwiegen 15o - 2oo Å große Granula, die Ribosomen. Sie liegen vorwiegend in Gruppen oder in Ketten und müssen in dieser Form als Polysomen bezeichnet werden. Daneben kommen nur wenige Zellorganellen vor. Am häufigsten sind noch langgestreckte Mitochondrien vom Cristae-Typ, die häufig als Ausdruck ihrer Teilungsaktivität sanduhrförmige Einschnürungen oder Knospungen zeigen. Der Golgi-Apparat ist sehr klein und besteht nur aus 2 bis 4 parallel gepackten, kurzen Säcken und einigen peripheren Vesikeln. In sehr viel geringerer Zahl finden sich Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums, kleine Vesikel und Granula und vereinzelt Fetteinschlüsse.

Eine Basalmembran ist bereits in diesen frühen Stadien elektronenmikroskopisch nachzuweisen. Jedoch ist sie noch sehr dünn (2oo Å) und nur wenig dicht. Bei höherer Vergrösserung lassen sich deshalb die filamentären Bausteine dieser bindegewebigen Verdichtungszone und auch die vom Bindegewebe her einstrahlenden feinen Filamente besonders gut darstellen. Die Interzellularlücken an der Basis des Epithels werden kontinuierlich überzogen.

B. Tag 16

Am Tag 16 der Entwicklung wird das Epithel auf den Gaumenfalten an einigen Stellen besonders im Gebiet der Basis drei- und vierschichtig. Die morphologischen Kennzeichen der oberflächlichen, peripheren Schicht gehen dabei verloren, die flach ausgebreitete Gestalt wird plumper und die kleinen fingerförmigenFortsätze an der Oberfläche verschwinden. Gleichzeitig nimmt die Weite der Interzellularräume etwas ab. In den oberflächlichen Bereichen, aber auch zur Basis des Epithels hin, lassen sich typische zonulae occludentes nachweisen. In diesen Stadien wurden auch die ersten Desmosomen-ähnlichen Haftpunkte beobachtet. Die Bildung solcher Kontaktstellen beginnt meistens mit einer Verdichtung des Zytoplasmas unter einem kleinen Abschnitt der Zellmembran an korrespondierenden Abschnitten benachbarter Zellen. Diese Verdichtungszonen nehmen dann an Größe zu, die innere Lamelle der Zellmembran wird dicker und schließlich verdichtet sich noch der Interzellularraum. Der Verlauf der Zellmembran wechselt in den einzelnen Abschnitten beträchtlich. An den Stellen, die noch weite Interzellularräume haben, finden sich unregelmäßig verlaufende Fortsätze, die sich mit den entsprechenden Fortsätzen der Nachbarzellen aneinanderlegen, umschlingen oder im extremen Falle sogar mäanderförmig verzahnen. Abschnitte mit weiten Interzellularräumen und Verzahnungen konnten wir häufig an der Faltenspitze, aber auch an der Faltenbasis beim Übergang in das normale Mundhöhlenepithel beobachten. An Stellen mit nur kleinen Interzellularräumen finden sich bereits zu diesem Zeitpunkte

längere Abschnitte, wo die Membranen benachbarter Zellen relativ geradlinig in einem Abstand von etwa 2oo Å parallel zueinander verlaufen.

Die Feinstruktur der Zellen selbst hat sich gegenüber dem 15-Tage-Stadium nicht wesentlich verändert. Auch hier finden wir große Kerne mit großen Nucleoli, einem angedeuteten dichteren Randchromatin und großen aufgelockerten Arealen. Die Form der Kerne ist vorwiegend rund bis oval, jedoch finden sich kurze, plumpe und einzelne, längere, fingerförmige Einbuchtungen. Im Zytoplasma selbst überwiegen die freien Ribosomen, die vorwiegend gruppiert als sogenannte Polysomen vorkommen. In einer Schnittebene konnten bis zu zehn Einzelribosomen zu einer Gruppe zusammengefaßt nachgewiesen werden. Die runden bis länglich-ovalen Mitochondrien zeigen einen hellen Matrixraum zwischen den wenigen und unregelmäßig verlaufenden Cristae. Daneben kommen noch einzelne Hohlräume des rauhen endoplasmatischen Retikulums, Vesikel, Vakuolen und ein kleiner Golgi-Apparat vor.

C. Tag 17

Am Tag 17 bis zur Aneinanderlagerung der Epithelflächen ändert sich an der Feinstruktur des Epithel nichts. An der Spitze, wo die Berührung der beiden Epithelschichten stattfindet, haben wir ein drei- bis vierschichtiges Epithel mit noch deutlichen Interzellularräumen. Eine besondere Oberflächendifferenzierung, die im Sinne einer Haftfunktion zu

deuten wäre (Mikrovilli und Schleimbelag an der Oberfläche), finden sich nicht. Die Zahl der Desmosomen hat etwas zugenommen. Die Basalmembran verdickt und verdichtet sich am 16. und 17. Tag etwas. Ihre Breite beträgt etwa 300 Å; Einzelheiten, wie z. B. Filamente, sind nur noch schwierig darzustellen.

Solange die Epithelflächen beider Fortsätze an der Berührungslinie noch durch einen elektronenmikroskopisch sichtbaren Spalt getrennt sind, das ist am Tage 16 + 12 Stunden manchmal gut zu erfassen, verändert sich die Feinstruktur nicht. Ist eine Verklebung eingetreten, erkennbar am fehlenden Spalt, treten deutliche morphologische Veränderungen auf. Die Kennzeichen dieser Zellen sind bis zu 10 µ große, membranbegrenzte Einschlüsse, deren Inhalt außerordentlich heterogen sein kann. Sie sind entweder fast leer, enthalten unterschiedliche Mengen feinen bis grobgranulären Materials oder die verschiedensten Zellorganellen (Ribosomen, Membranstrukturen und Mitochondrien). Sie können aufgrund dieser morphologischen Kennzeichen als Zytolysosomen bezeichnet werden. In Analogie zu den Vorgängen in Zytolysosomen anderer Zellarten entstehen durch den Abbau ihres Inhaltes darüber hinaus noch granuläre Plaques und Myelinfiguren.

Im übrigen Zytoplasma vermindert sich die Zahl der zu Polysomen vereinigten Ribosomen, die Mitochondrien schwellen etwas, und die Hohlräume des endoplasmatischen Retikulums zerfallen vesikulär.

Während dieser Vorgänge lockert sich die Basalmembran auf und ist sogar stellenweise nicht mehr nachzuweisen. Gleichzeitig schieben sich mesenchymale Zellen gegen das Epithelgewebe vor und drängen sich mit Fortsätzen im Bereich der Basalmembran-freien Zonen zwischen die Epithelzellen. Die scharfe Grenze des Epithels zum Bindegewebe hin geht dadurch verloren.

D. Vereinigung

Die jetzt folgendenVorgänge laufen offenbar außerordentlich schnell ab. Während zum Zeitpunkt 16 + 12 Stunden das eben beschriebene Bild zu beobachten ist, finden sich zum Zeitpunkt 17 + 2 Stunden oder 17 + 5 Stunden an der Verschmelzungslinie nur noch isolierte Epithelinseln. Bei der Auflösung dieser Inseln spielen sich offenbar ähnliche Vorgänge ab wie bei der Auflösung des kontinuierlichen Epithelstreifens. Der Epithelverband lockert sich weiter auf, die Mesenchymzellen dringen in die entstehenden Lücken ein und entfalten hier eine phagozytotische Aktivität. Sie können entweder ganze Epithelzellen phagozytotisch inkorporieren, oder sie nehmen die Trümmer zerfallener Epithelzellen auf. Ab Zeitpunkt 17 + 12 Stunden sind nur noch sehr selten Epithelinseln in Auflösung nachzuweisen. An einzelnen Stellen finden sich noch etwas gehäuft mesenchymale Freßzellen, die im Lichtmikroskop Granula enthalten und im Elektronenmikroskop vollgestopft sind mit Phagolysosomen. Diese Einschlüsse sind kontinuierlich von einer Membran begrenzt und enthalten Zellbestandteile in allen Abbau-

stadien, granuläre und homogene Plaques, sowie Myelinfiguren. Sie entsprechen also morphologisch den beschriebenen Zytolysosomen und unterscheiden sich nur durch die Entstehungsweise: Zytolysosomen entstehen durch Einschmelzung zelleigener Areale, Phagolysosomen durch Abbau phagozytierten Materials.

Am Tag 18 erinnert nichts mehr an die Auflösung des Epithels; die Funktion des Bindegewebes dieser Stelle ist jetzt umgestaltet, es beginnt eine morphologisch deutlich faßbare Synthese bindegewebiger Interzellularsubstanz.

IV. Diskussion

Nach Durchsicht der Literatur hatte sich gezeigt, daß die epitheliale Bedeckung der Gaumenfalten an zwei Stadien des Gaumenschlusses beteiligt sein könnte. Zunächst wäre es in Analogie zu ähnlichen Entwicklungen an den Extremitäten möglich, daß das Epithel für eine gewisse Zeitspanne die Wachstumsrichtung und die Wachstumsschwerpunkte prägt, und damit auf das darunterliegende Mesenchym einen Einfluß ausübt. Morphologisch sind solche Induktionsvorgänge wegen der Kleinheit der beteiligten Moleküle nur indirekt zu erfassen. An den Extremitäten lassen sie sich erschließen aus Epithelverdickungen an den Stellen, die diese Induktionswirkung haben (apicale ridge). Solche Epithelveränderungen konnten wir an unserem Material niemals beobachten. Das Epithel der Gaumenfalten entspricht in Aufbau und Feinstruktur weitgehend dem der übrigen Mundhöhle (BALDUS, 1969) und der Epidermis (STEIN, 1969). Die einzigen Epithelverdickungen finden sich lateral von der Basis der Gaumenfalte. An dieser Stelle entsteht nach dem Gaumenschluß die spätere Zahnleiste. Es ist jedoch nur schlecht vorstellbar, daß von hier aus ein Proliferationsdruck über weite Strecken die Stellung der Gaumenfalte beeinflussen könnte (ORBAN, 1957). Obwohl unsere Methodik es nicht erlaubt, auf die Proliferationskinetik des Epithels genauer einzugehen, sollte doch erwähnt werden, daß weder im Gebiet der späteren Zahnleiste noch in den übrigen Bereichen des Faltenepithels zu diesem Zeitpunkt eine ideale Häufung von Mitosen beobachtet werden konnte. Vom rein morphologischen Standpunkt aus können wir also keine Hinweise für die Beteiligung des Epithels an der Prägung der

Wachstumsrichtung der Falten und an ihrer Aufrichtung erfassen.

Eine wichtige Rolle spielt dagegen das Epithel beim Gaumenschluß selbst. Dieser Vorgang beginnt nach Aufrichten der Falten mit der Verklebung des Epithels. Nach kurzer Zeit lassen sich die epithelialen Anteile beider Falten nicht mehr auseinander halten. Diese schnelle Verklebung unterscheidet sich von dem Verhalten des übrigen Mundhöhlenepithels. Hier finden wir stellenweise eine länger dauernde Aneinanderlagerung von Epithelverbänden, z. B. zwischen Zunge und seitlicher Mundhöhlenwand. Eine Verklebung kommt hier jedoch niemals vor, immer lassen sich im Elektronen-Mikroskop die oberflächlichen Schichten der beiden Epithelverbände und ein dazwischen liegender kleiner Spalt deutlich darstellen. Nach unseren heutigen Vorstellungen wird aber das Kontaktverhalten von Epithelzellen und das Unvermögen, Kontakte herzustellen (Kontaktinhibition) ermöglicht oder verhindert von den oberflächlichen Schichten der Zellmembran (surface coat) (MERKER, 1969; REVEL und ITO, 1967; WEISS, 1958). Es muß deshalb angenommen werden, daß sich die Oberfläche des Epithels der Faltenspitze von der des übrigen Mundhöhlenepithels unterscheidet, obwohl keine morphologischen Unterschiede zu erfassen sind.

Erst nach der Verklebung beider Epithelschichten setzt der Abbau des Epithels und die bindegewebige Verklammerung des Gaumens ein. Es ist noch völlig unklar, ob diese Vorgänge bei teratologischen Experimenten beeinflußt werden und ob sie dabei eine Rolle spielen. Zweifellos sollte aber diese Möglichkeit berücksichtigt werden.

Der Abbau der medialen Epithelschicht, die das Zusammenwachsen der beiden Mesenchymanlagen verhindert, erfolgt nach unseren Befunden relativ schnell. Während zum Zeitpunkt 16 + 12 Stunden die Verklebung gerade beginnt, ist der Abbau 24 Stunden später in großen Bereichen bereits abgeschlossen. Der Vorgang selbst kann morphologisch deutlich verfolgt und genau beschrieben werden. Es ist jedoch unmöglich, etwas über die Ursache und die molekularbiologischen Vorgänge, die sich dabei abspielen, zu sagen. Theoretisch kann sowohl eine heftige Mesenchymreaktion mit dem Auftreten von Freßzellen als auch Degenerationsvorgänge im Epithel selbst die auslösende Ursache sein. Das Auftreten von Zytolysosomen in den Epithelzellen noch bevor der Epithelverband sich auflöst, spricht aber eher für eine prägende Rolle des Epithels bei diesen Vorgängen. Es muß deshalb angenommen werden, daß der Stoffwechsel der Epithelzellen am Beginn des Auflösungsprozesses geschädigt oder zumindest verändert wird. Die Zellen antworten mit dem Versuch, die jetzt überflüssigen Zellbestandteile in große Vakuolen einzuschmelzen. Bei der Aktivierung der lysosomalen Fermente in den Lysosomen kann aber die geschädigte Zelle die Einschmelzungsvakuole nicht mehr dicht halten. Die Fermente strömen in das Zytoplasma aus und werden jetzt auch außerhalb der Vakuolen aktiv. Die Folge ist eine allgemeine Schädigung der Epithelzelle, die chemotaktisch und induzierend auf das benachbarte Mesenchym wirkt. Da durch den Wegfall des epithelialen Einflusses auch die Basalmembran verändert wird, sei es durch Wegfall der epithelialen Syntheseleistung oder nur durch den

Zusammenbruch der Phasengrenze, gelingt es den mesenchymalen Freßzellen leicht, sich zwischen die Epithelzellen zu schieben und hier die Zelltrümmer zu phagozytieren. Da außerdem durch Wegfall der Stoffwechselaktivität die energieabhängigen Kontaktstellen aufgelöst werden, ist der schnelle Zusammenbruch des epithelialen Zellverbandes verständlich. Dieses hypothetische Bild des Epithelabbaus an der Vereinigungsstelle beider Gaumenfalten besagt natürlich nichts über die primäre Ursache, die diese Vorgänge in Gang setzen. Hier kann nur vermutet werden, daß Durchblutungsstörungen, Verlegung der freien Oberfläche und die Aufhebung der Polarität des Epithels eine gewisse Rolle spielen könnten.

Während also diese Befunde nicht für eine sehr spezifische Beteiligung des Epithels an der Bildung und Aufrichtung der Falten sprechen, kommt ihm doch beim eigentlichen Verschmelzungsprozeß eine große Wichtigkeit zu.

V. Zusammenfassung

Das Epithel der Gaumenfortsätze von Rattenembryonen wurde elektronenmikroskopisch jeweils vom frühen und späten Tag 14 bis 18 der Embryonalentwicklung untersucht. Ein umgekehrter Tag-Nacht-Rhythmus ermöglichte eine relativ genaue Zeitbestimmung der Frucht. Nach Tötung der Muttertiere wurden die Embryonen in eine 2-%ige mit o,1 M Phosphatpuffer eingestellte (pH 7,4) Glutaraldehydlösung gelegt (für 3 - 4 Stunden). Kieferscheiben wurden dann unter der Lupe präpariert, in 1-%iger OsO_4-Lösung nachfixiert und nach Entwässerung in der Acetonreihe flach in Mikropal eingebettet.

Die Gaumenentwicklung beginnt zum Zeitpunkt 14 + 12 Stunden, die Aufrichtung der Gaumenfortsätze erfolgt vom Zeitpunkt 16 + 12 Stunden an und endet mit der Verschmelzung zwischen dem Zeitpunkt 16 + 2o Stunden und 17 + 5 Stunden.

Das Epithel am Tag 15 ist zweischichtig; zum Lumen hin finden sich Mikrovilli. Zonulae occludentes (tight junctions) kommen an den Kontaktstellen benachbarter Zellen vor; Desmosomen werden noch nicht beobachtet. Im Zytoplasma überwiegen Ribosomen. Eine Basalmembran von 2oo Å Dicke ist nachzuweisen.

Am Tag 16 wird das Epithel drei- und vierschichtig. Zonulae occludentes und erste Desmosomen-ähnliche Haftpunkte werden beobachtet. Die Weite der Interzellularräume nimmt ab. Die Feinstruktur der Zellen hat sich nicht wesentlich geändert.

Am Tag 17 ist das Epithel an der Spitze noch drei- bis vierschichtig. Die freien Ribosomen überwiegen im Zytoplasma. Die Basalmembran verdickt sich (300 Å).

Eine Veränderung der Feinstruktur beginnt erst nach der Verklebung. Die Zellen zeigen bis zu 10 µ große Einschlüsse, die als Zytolysosomen bezeichnet werden und Zellbestandteile enthalten. Granuläre Plaques und Myelinfiguren entstehen durch den Abbau dieser Strukturen. Die Basalmembran lockert sich auf, und die Fortsätze mesenchymaler Zellen drängen sich zwischen die Epithelzellen.

Zum Zeitpunkt 17 + 2 Stunden erscheinen nur noch isolierte Epithelinseln. Mesenchymale Freßzellen phagozytieren Epithelzellen oder deren Trümmer.

Am Tag 18 ist das Epithel aufgelöst.

Die Rolle des Epithels bei der Prägung der Wachstumsrichtung der Falten und beim Gaumenschluß wird diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS

AMPRINO, R. und AMPRINO BONETTI, D.:
Relations morphogénétiques entre ecto- et mésoderme au cours du développement du bourgeon des membres du poulet, in: Bulletin de l'association des Anatomistes, S. 134 - 14o (1967)

BALDUS, A.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die frühesten Differenzierungsphasen der Zahnleiste bei der Ratte. Dissertation Med. Fak., Freie Universität Berlin 1969

BURDI, A.R. und FAIST, K.:
Morphogenesis of the palate in normal human embryos with special emphasis on the mechanism involved, in: Am. J. Anat., 12o, 149 - 159 (1967)

BURDI, A.R.:
Distribution of midpalatine cysts: A reevaluation of human palatal closure mechanism, in: J. Oral Surg.,26, 41 - 45 (Januar 1968)

CARSTEN, P.-M.:
Die Bedeutung der Mucopolysaccharide für die Bildung des sekundären Gaumens. Dissertation Med. Fak. Freie Universität Berlin 1959

COLEMAN, R. D.:
Development of the rat palate, in: Anat. Rec., 151, 1o7 - 118 (1965)

DE ANGELIS, V.:
The distribution of glycogen in mouse and rat palatal processes during secondary palate formation: An ultrastructural study, in: Arch. of Oral Biol., 14, 385 ff. (1969)

DE DUVE, D.:
Lysosomes, a new group of cytoplasmic particles, in: Subcellular particles (T. HAYASHI, ed.), S. 128 - 159. New York: The Ronald Press Co. (1959)

DE DUVE, D.: The lysosome concept, in: Lysosomes (RENK u. CAMERON, ed.), London: Churchill (1963)

FUCHS, H.: Über correlative Beziehungen zwischen Zungen- und Gaumenentwicklung der Säugetierembryonen nebst Beachtung der Erscheinungsformen in progressiver und regressiver Entwicklung, in: Ztschr. f. Morphol. u. Anthrop. Bd. XIII, Stuttgart (1911), S. 97 - 130

FULTON, J. T.: Closure of the human palate in embryo (microscopic), in: Amer. J. Obstet.Gynec., 74, 179 - 182 (1957)

GIBBINS, J. R.: An electron-microscopic study of the epithelium of the palate of the albino rat, in: Arch.Oral Biol., 7, 287 - 295 (May-June 1962)

GROBSTEIN, C.: Epitheliamesenchymal specifity in the morphogenesis of mouse submandibular rudiments "in vitro", in: J.exp.Zool. 124, 383 -.414 (1953)

HAYWARD, A.F.: Ultrastructural changes in the epithelim during fusion of the palatal processes in rats, in: Arch.Oral Biol. 14, 661 ff (1969)

HIS, W.: Beobachtungen zur Geschichte der Nasen- und Gaumenbildung beim menschlichen Embryo, in: Abh.d. sächs.Akad.d.Wiss., Math.-Phys.Kl. 26 (1901)

HOCHSTETTER, F.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des menschlichen Gaumens, in: Morhp. Jb. 77, 179 (1936)

INOUYE, M.: Die Entwicklung des sekundären Gaumens einiger Säugetiere, in: Anat.Hefte 45, 265 - 327 (1912)

JACOBS, R.M.: Histochemical study of morphogenesis and teratogenesis of the palate in mouse embryos, in: Anat.Rec. 149, 691 - 697 (August 1964)

KIENY, M.: Rôle du mésoderme et de l'ectoderme dans les phénomènes de régulation du bourgeon de membre de l'embryon de poulet, in: C.R.Acad.Sc. Paris, 262, 495 - 498 (Januar 1966)

LARSSON, K.S.: Studies of the closure of the secondary palate, in: Acta morph. scand. 4, 349 - 367 (1962); 4, 369 - 386 (1962)

LITTLE, J.S.: A vital morphological study of normal palatal closure in A/Jax mice, in: M.S.Thesis Univ.of Michigan 1963

MATO, M. et al: Further studies on "cell reaction" at the lower surface of the nasal septum of human embryos during the fusion to the palate, in: Acta Anat. 71, 154 - 160 (1968)

MERCER, E.H.: Keratin and Keratinization. Pergamon Press Oxford-London-New York-Paris 1961

MERKER, H.J.: Die Veränderungen der Rattenvagina im Zyklus und unter experimentellen Bedingungen. Habilitationsschrift FU Berlin 1964

Die Morphologie der Resorption. Verh.dtsch.Ges.Path. 1969, im Druck

MONTAGNA, W. et al: Cyclic changes in polysaccharides of the papilla of the hair follicle, in: Quart.J.Micr.Sci. 93, 241 - 245 (1952)

MOORE, R.D. et al: Reresponse of connective tissue associated with tumors of the skin, in: AmJ.Clin.Pathol. 34, 125 - 130 (1960)

NEUNER, B. Das elektronenmikroskopische Bild des Mesenchyms der Gaumenfalten bei Rattenembryonen (Tag 14 - 17), Dissertation Med.Fak. Freie Universität Berlin 1969

NOVIKOFF, A.B. Lysosomes and related particles, in: The Cell (ed. by BRACHET and MIRSKY) Academic Press, New York-London, 423 - 488 (1961)

O'RAHILLY, R. et al: The Ectodermal Thickening and Ridge in the Limbs of Staged Human Embryos, in: J.Embryol.exp.Morph. 4 254 - 264 (1956)

PAUTOU, M-P.: Rôle déterminant du mésoderme dans la différenciation spécifique de la patte de l'oiseau, in: Arch.D'Anat. Micr. et de Morph.Exp. 57/4, 311 - 328 (1968)

PÖLZL, A.: Zur Entwicklungsgeschichte des menschlichen Gaumens, in: Anat. Hefte 27, 245 - 281 (1905)

POHLMANN, E.H.: Die embryonale Metamorphose der Physiognomie und der Mundhöhle des Katzenkopfes, in: Morph. Jb. 41, 617 - 680 (1910)

REVELS, J.P. und ITO, S.: The surface components of cells, in: The specificy of cell surfaces (eds.: B.D. DAVIS und L. WARREN), Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs N.Y. 1967, 211 - 234

SCHORR, G.: Zur Entwicklungsgeschichte des sekundären Gaumens einiger Säugetiere und beim Menschen, in: Anat. Hefte 36, 84 - 97 (1908)

SCOTT, J.A.: The early development of oral cyst in man, in: Brit.dent.J. 98, 109 (1955)

SICHER, H.: Die Entwicklung des sekundären Gaumens beim Menschen, in: Anat. Anz. 47, 445 - 562 (1915)

STEFFEK, A.J. et al: The Histology of Palatal Closure in the Rhesus Monkey, in: Teratology 1, 425 ff.(1968)

STEIN: Die Entwicklung der Haut bei der embryonalen Ratte im elektronenmikroskopischen Bild, Dissertation an der Med.Fak. FU Berlin, in Vorbereitung

TAYLOR, R.M.: The human palate, in: Acta Anat./ Basel 49 (suppl. 43), 1 - 108 (1962)

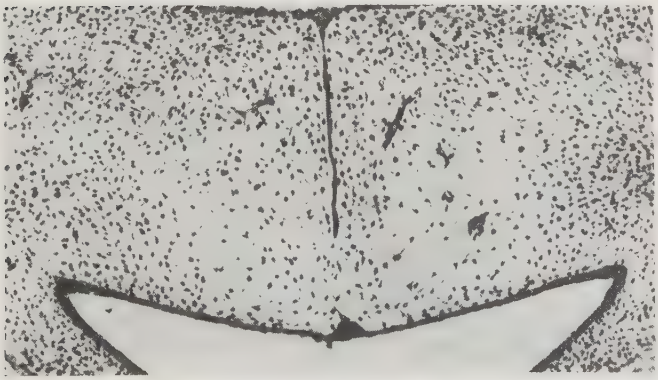
WALKER, B.E. und FRASER, F.G.: Closure of the secondary palate in three strains of mice, in: J.Embryol.exp.Morph. 4, 176 - 189 (1956)

WEISS, P.: Cell Contact, in: Internat.Rev. Cytol. 7, 391 - 424 (1958)

WESSELS, N.K.: Effects of extraepithelial factors on the incorporation of thymidine by embryonic epidermis, in: Exp. Cell Res. 30, 36 - 55 (1963)

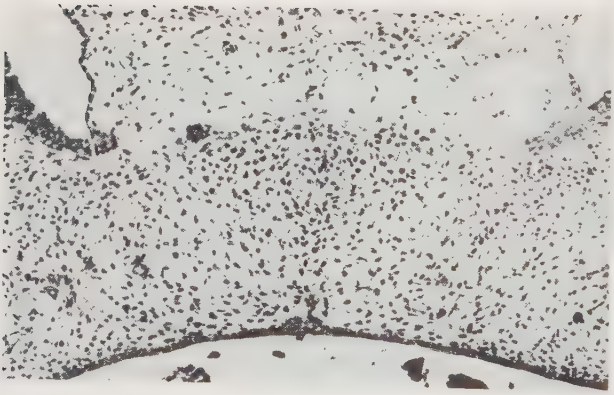
ZWILLING, E.: Ectoderm-mesoderm relationship in the development of the chick embryo limb bud, in: J.Exp.Zool.,128, 423 - 441 (1955)

Interaction between ectoderm and mesoderm in duck-chicken limb bud chimaeras, in: J.Exp.Zool., 142, 521 - 532 (1959)



I a) Lichtmikroskopisches Bild. Rattenembryo Tag 15. Hängende Gaumenfalte mit unauffälligem Epithel.

b) Lichtmikroskopisches Bild. Rattenembryo Tag 17. Gaumenfalten nach der Verschmelzung. Teilweise Auflösung des Epithels.



II a) Lichtmikroskopisches Bild. Rattenembryo Tag 17. Gaumenfalten nach der Verschmelzung. Nur noch Reste einer Epithelinsel.

b) Lichtmikroskopisches Bild. Rattenembryo Tag 17. Vollzogene Auflösung des Epithels. Nur noch angedeutete Verdichtungen der Mesenchymzellen in der Mittellinie.

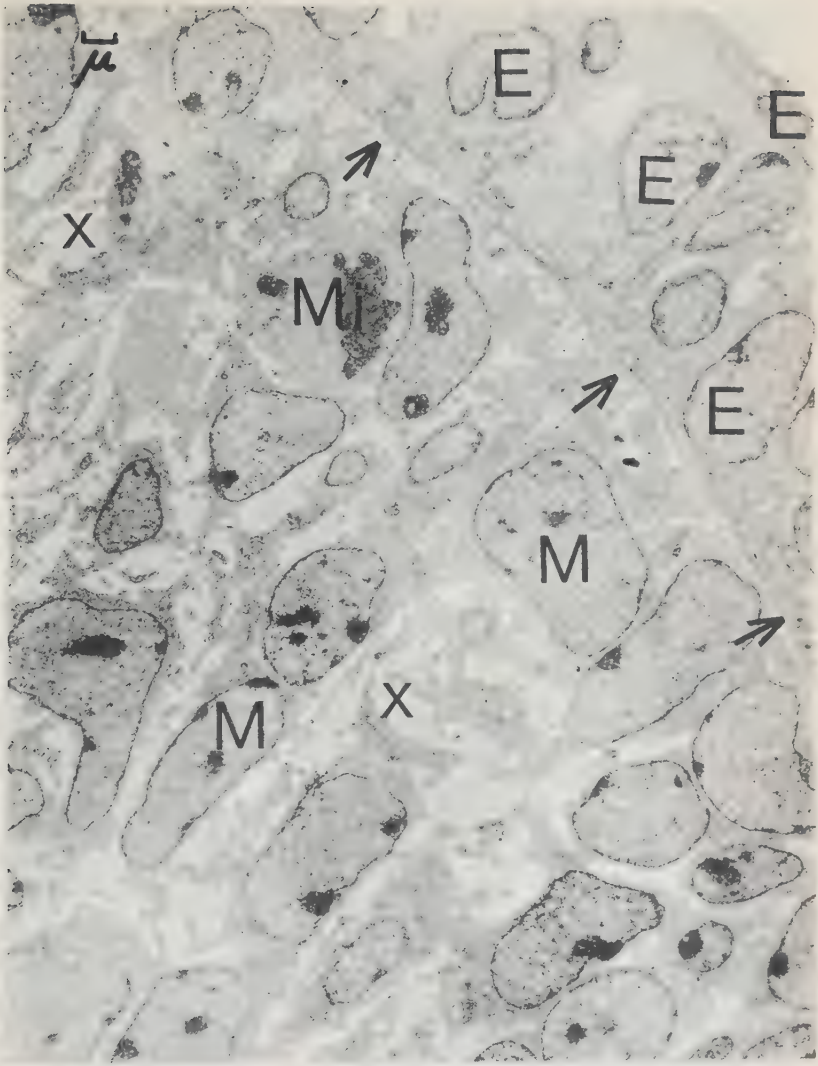


Abb. 1

Rattenembryo Tag 15 mit dem Epithel der Gaumenfortsatzspitze (E). Demarkation vom Mesenchym deutlich vollzogen (↗). Mesenchymzellen (M) in relativ dichter Packung. Bei Mi Mitose. Mittelweite Interzellularräume (x). Vergrößerung 1 : 7000

Abb. 2

Rattenembryo Tag 15. Zelle aus dem Gaumenfortsatzepithel mit großem Nucleus (N) und Nucleolus (No) umgeben von einer deutlichen Kernmembran (v). Im Zytoplasma reichlich Ribosomen (O), in Polysomenform. Einzelne Mitochondrien (M) und rauhes endoplasmatisches Retikulum (eR). x = Interzellularräume. Normale Zellkontakte (↑) oder primitive Desmosomen mit Zytoplasmaverdichtungen (↥). Vergrößerung 1 : 35000

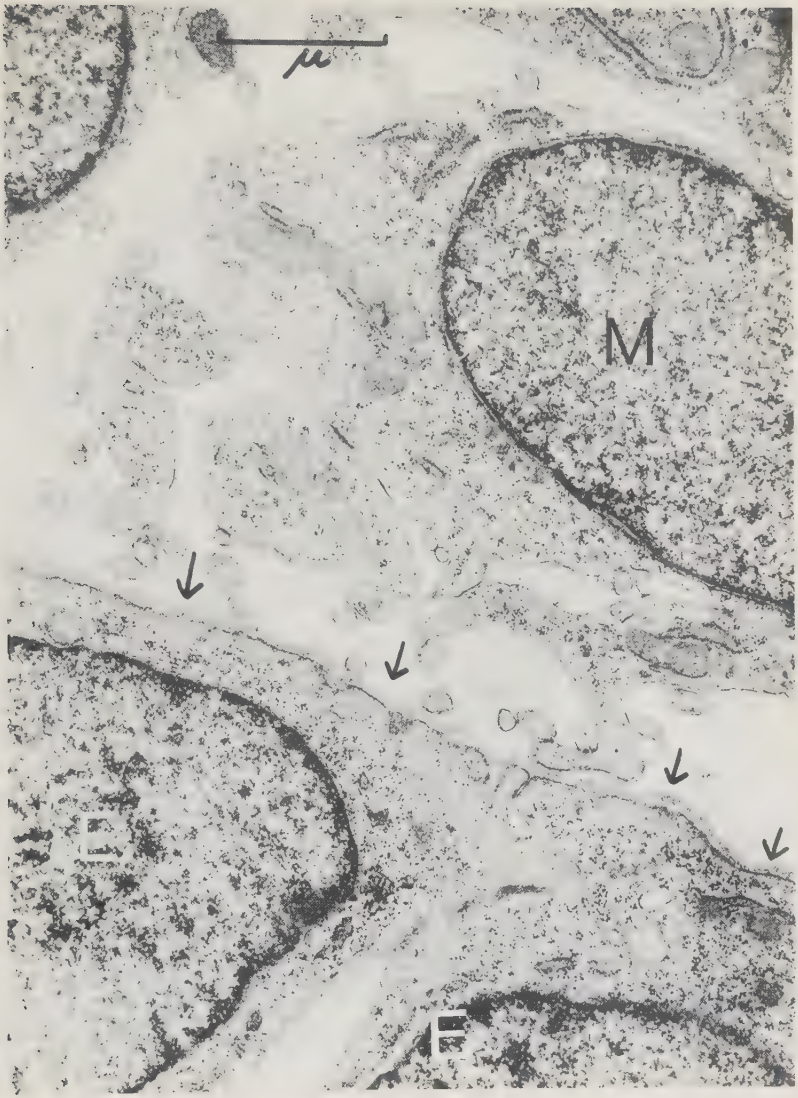


Abb. 3

Rattenembryo Tag 15. Basale Teile des Gaumenfaltenepithels (E), Mesenchymzellen (M) und locker aufgebaute Basalmembran (↑). Zahlreiche freie Ribosomen im Zytoplasma.

Vergrößerung 1 : 35000

Abb. 4

Rattenembryo Tag 15. Basale Teile des Gaumenfaltenepithels (E), Mesenchymzellen (M) und locker aufgebaute Basalmembran (↑). Zahlreiche freie Ribosomen im Zytoplasma. An der Basalmembran filamentäre Strukturen. Vergrößerung 1 : 54000

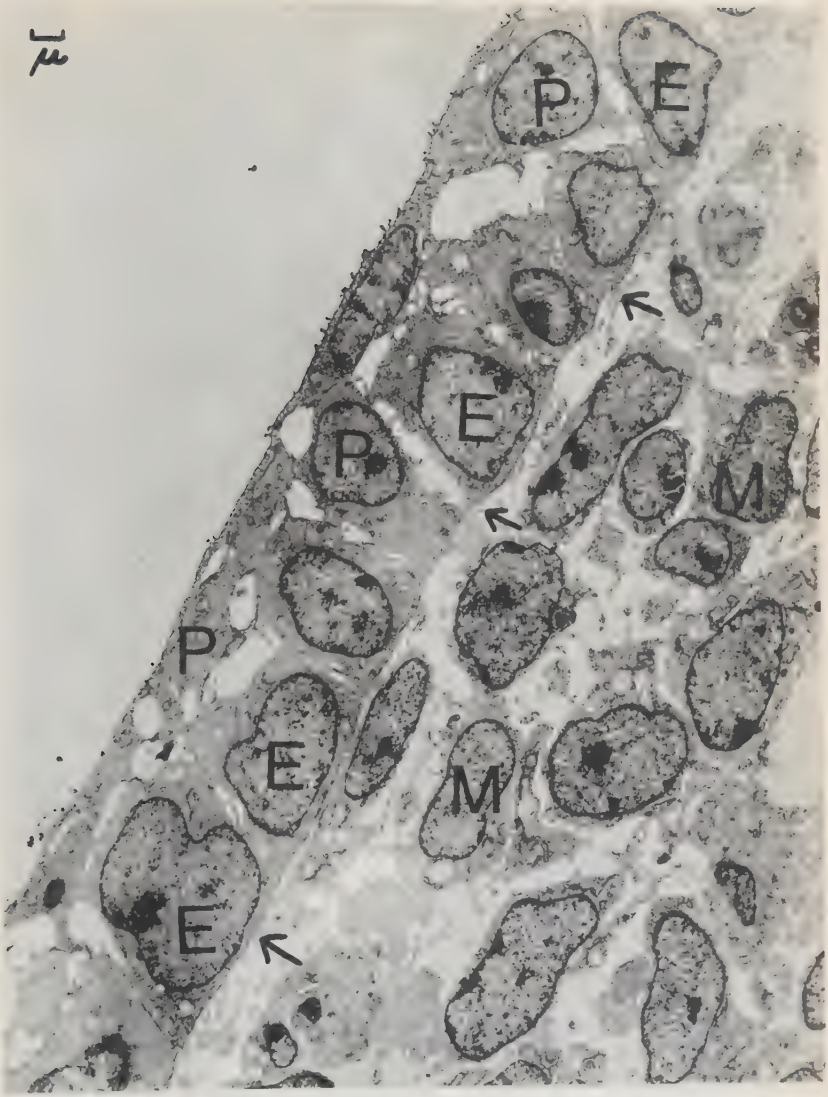


Abb. 5

Rattenembryo Tag 16. Übersichtsbild über das laterale Gaumenfaltenepithel (E), hier deutlich zweischichtig mit oberflächlicher peridermen Lage. Gute Abgrenzung (↑) gegenüber den Mesenchymzellen (M). Vergrößerung 1 : 7ooo

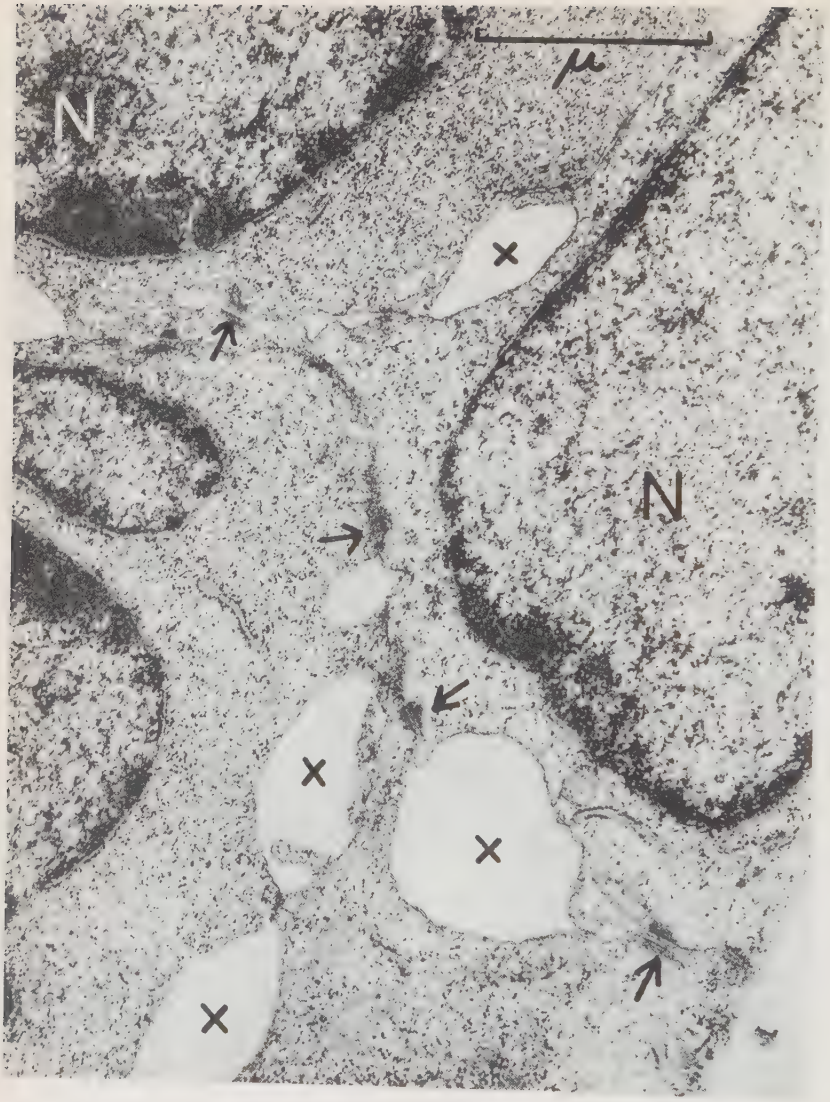


Abb. 6

Rattenembryo Tag 16. Oberflächliche Epithelschicht mit Interzellularräumen (x) und desmosomenähnlichen Kontakten (↑).
N = Nucleus

Vergrößerung 1 : 49000

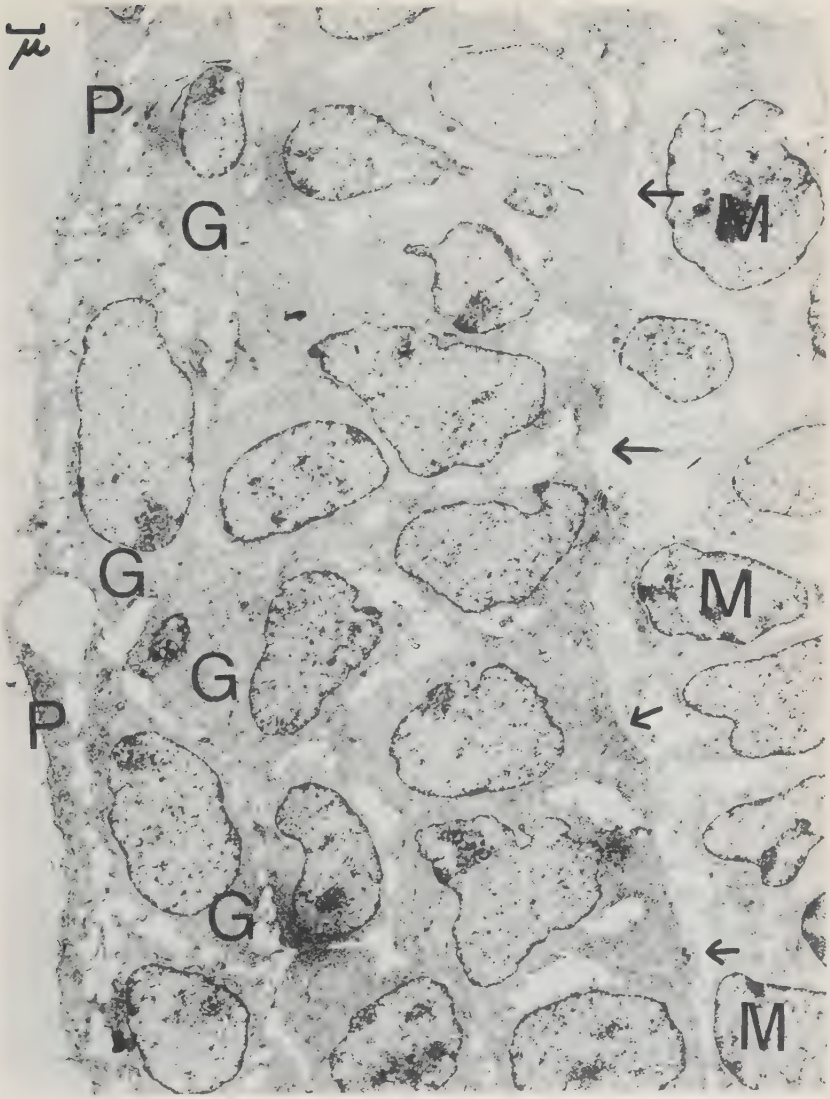


Abb. 7

Rattenembryo Tag 17. Epithel an der lateralen Basis der Gaumenfalte mit zahlreichen Glykogeneinschlüssen. Mehrschichtig mit dünner Peridermlage. Basalmembran (↑) vorhanden.
M = Mesenchymzellen Vergrößerung 1 : 7ooo

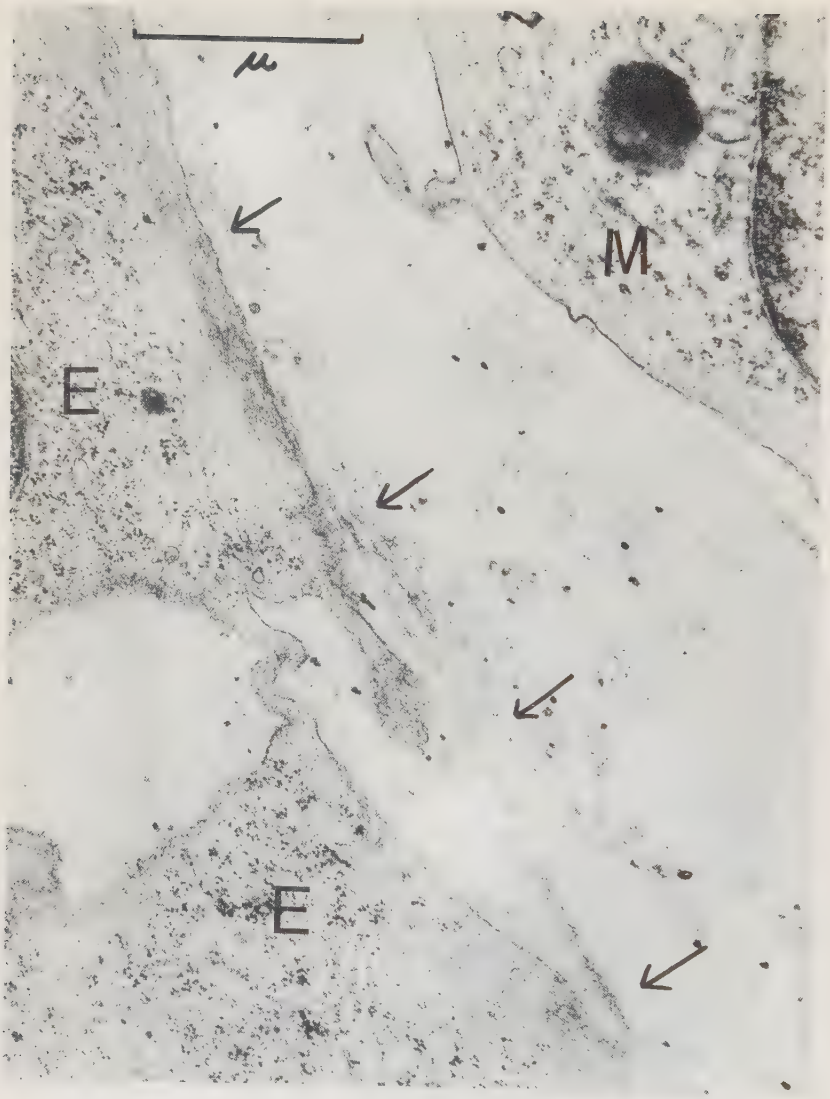


Abb. 8

Rattenembryo Tag 17. Epithel (E)- Bindegewebs(M)-Grenze unter dem Epithel kurz nach der Verschmelzung. Basalmembran (↑) in Auslösung.
Vergrößerung 1 : 49000

Abb. 9

Rattenembryo Tag 17. Verschmelzungsstelle zur Mundhöhle hin (MH) mit zahlreichen Glycogeneinschlüssen (G) und Lysosomen (L). Basalmembran in Auflösung (↑). Vergrößerung 1 : 7000

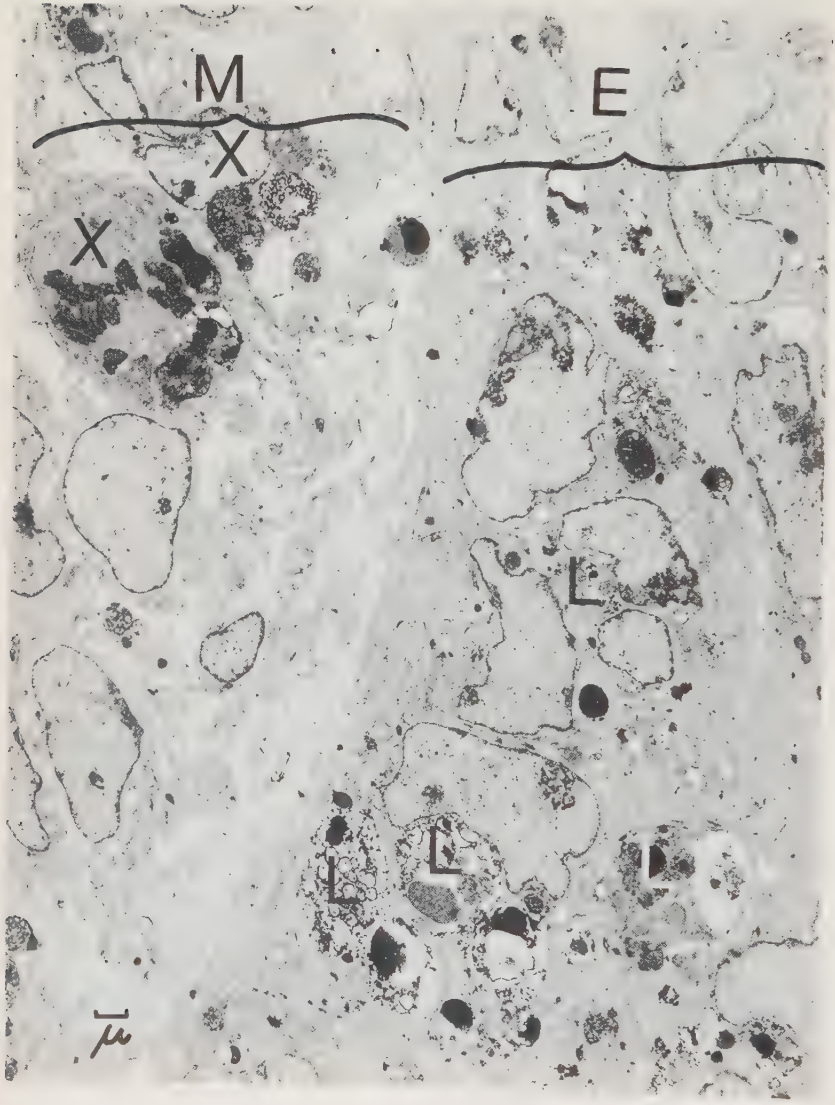


Abb. 1o

Rattenembryo Tag 17. Epithel (E) nach der Vereinigung mit zahlreichen Zytolysosomen (L). Im Mesenchym (M) Freßzellen (x).
Vergrößerung 1 : 7ooo

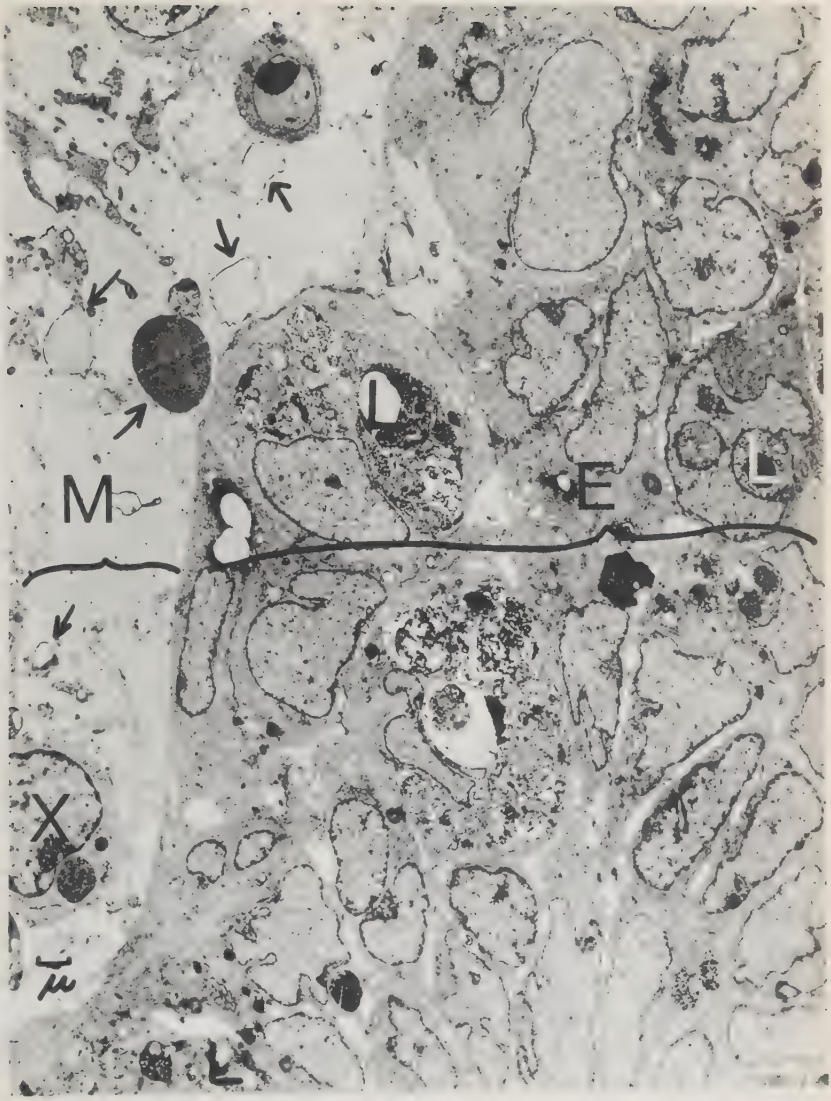


Abb. 11

Rattenembryo Tag 17. Epithel (E) nach der Vereinigung und Zelltrümmer im Interzellularraum (↑) mit zahlreichen Zytolysosomen (L). Im Mesenchym (M) Freßzellen (x).

Vergrößerung 1 : 7ooo

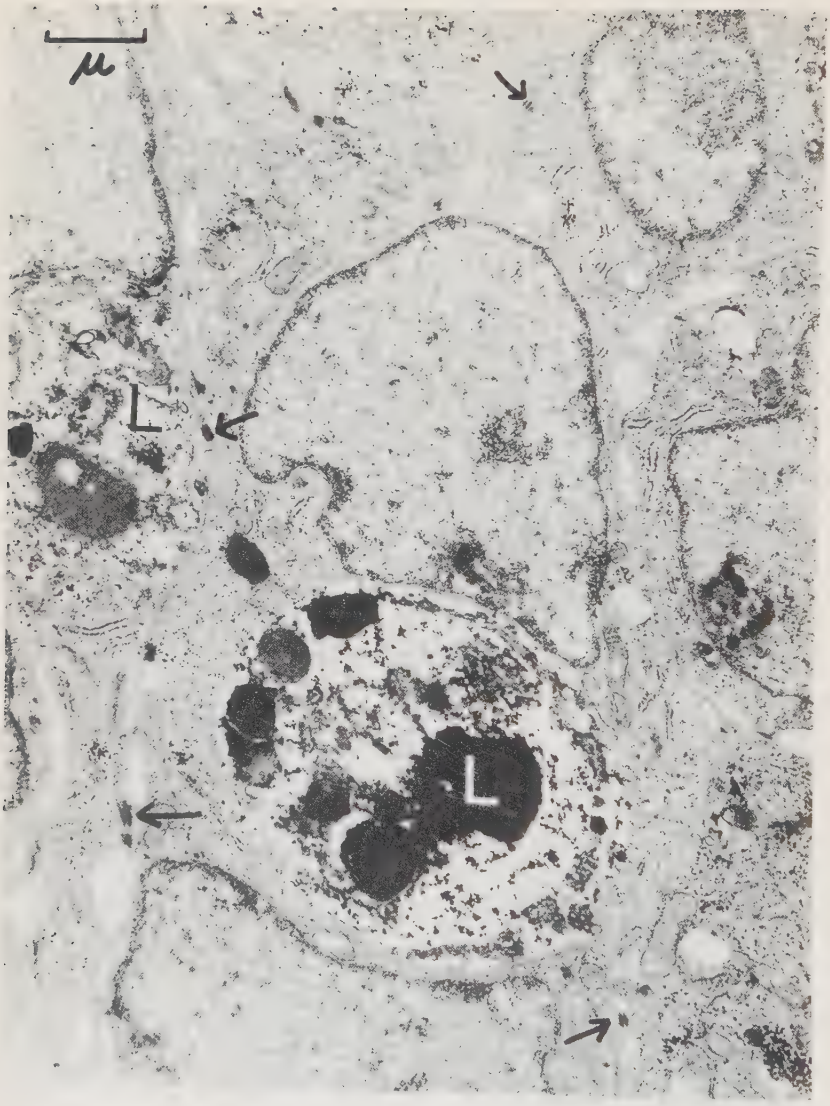


Abb. 12

Rattenembryo Tag 17. Epithel nach der Verschmelzung mit großen Lysosomen und nur noch wenig Kontaktpunkten (↑) zwischen den Zellen.
Vergrößerung 1 : 21ooo

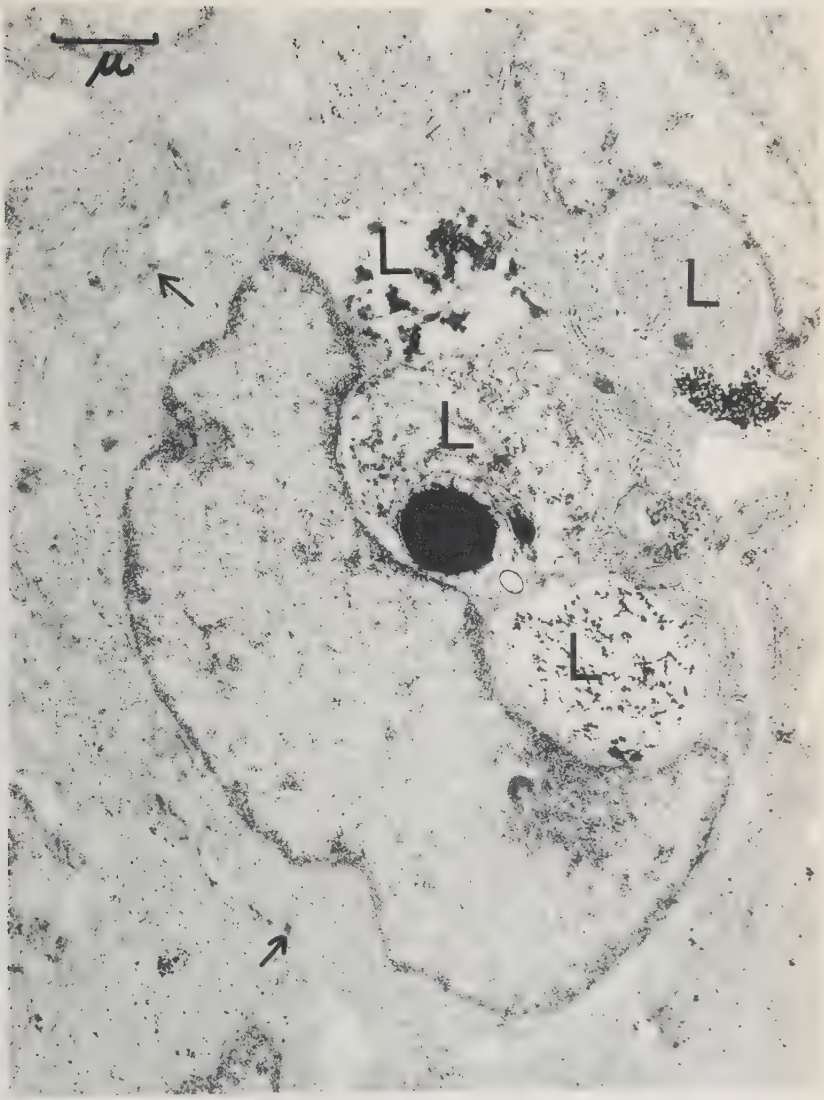


Abb. 13

Rattenembryo Tag 17. Epithel nach der Verschmelzung mit großen Lysosomen und nur noch wenig Kontaktpunkten (↑) zwischen den Zellen. Vergrößerung 1 : 21000

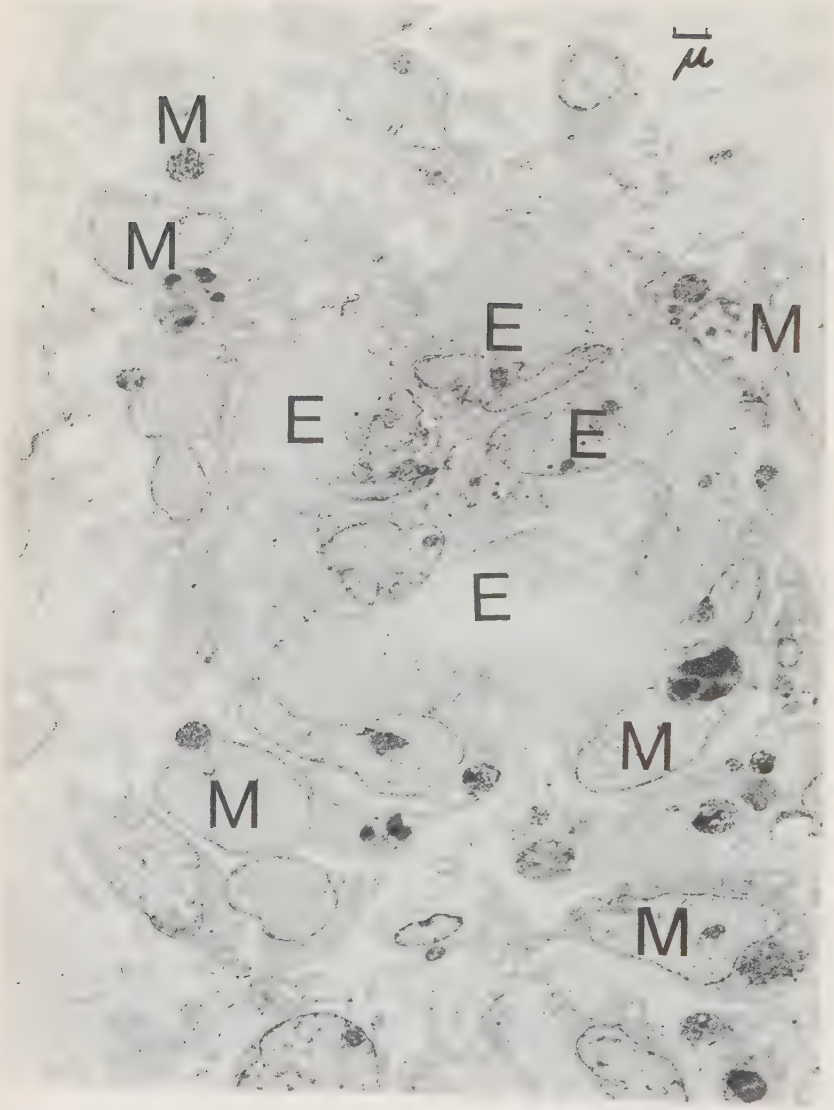


Abb. 14

Rattenembryo Tag 17 (abends). Kugeliger Epithelrest nach der Verschmelzung (E) umgeben von mesenchymalen Freßzellen (M).

Vergrößerung 1 : 7000

LEBENSLAUF

Am 16. September 1942 wurde ich als Tochter des Senatsrates Karl-Heinrich Blunk und seiner Ehefrau Thea Blunk, geb. Sonnen, in Berlin geboren.

In Zehlendorf besuchte ich die Grundschule und die Droste-Hülshoff-Schule (Neusprachliches Gymnasium). Nach bestandener Reifeprüfung am 28. Februar 1962 immatrikulierte ich mich zum Sommersemester 1962 an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin, der ich ununterbrochen angehört habe.

Das Physikum bestand ich im Herbst 1965 mit der Note "befriedigend". Am 26. Juli 1968 legte ich das zahnmedizinische Staatsexamen mit der Note "gut" ab. Am 24. September 1968 erhielt ich die Approbationsurkunde.

Vom 1. Oktober 1968 - 1. Oktober 1969 arbeitete ich als zahnärztliche Assistentin bei dem Zahnarzt Dr. Gerhard Leutke in Berlin-Lichterfelde. Seit dem 1. Oktober 1969 bin ich als Assistentin bei dem Zahnarzt Erwin Lücke in Berlin-Lichterfelde beschäftigt.

Druck:

DISSERTATIONSDRUCKSTELLE
der Ernst-Reuter-Gesellschaft
der Förderer und Freunde
der Freien Universität Berlin e. V.
Pächter: Franz Augustin
1 Berlin 33, Garystr. 45